

## 局灶性脑缺血中脑组织和血清中白细胞介素6及肿瘤坏死因子 $\alpha$ 表达的研究

郭宗泽<sup>1</sup>, 李光宇<sup>1△</sup>, 冷汝溥<sup>2</sup>, 李亮<sup>1</sup>, 单伟<sup>1</sup>

(1. 中国医科大学附属第一医院神经外科, 辽宁 沈阳 110001; 2. 附属第一医院急诊科)

[摘要] 目的: 研究在大鼠局灶性脑缺血的动物模型中脑组织白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的表达变化及血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量变化。方法: 采用线栓法建立大鼠局灶性脑缺血的动物模型, 在缺血后6, 12, 24, 48 h断头取脑, 并采静脉血。分别以逆转录-聚合酶链式反应和放射免疫方法检测脑组织中IL-6和TNF- $\alpha$  mRNA的变化及血清中IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量变化。结果: 缺血脑组织中IL-6的mRNA的表达水平升高, 6 h达到高峰, 48 h恢复到基础水平。血清中IL-6的含量在脑缺血后同样升高, 12 h达到高峰。而脑组织TNF- $\alpha$  mRNA的表达在12 h达到高峰, 血清中的TNF- $\alpha$ 水平48 h内仍继续升高。结论: 局灶性脑缺血可以诱发血清和脑组织中IL-6和TNF- $\alpha$ 的高表达。

[关键词] 脑缺血; 白细胞介素6; 逆转录-聚合酶链式反应; 肿瘤坏死因子 $\alpha$

[中图分类号] R743.33 [文献标识码] A [文章编号] 0258-4646(2007)01-0005-02

### Expression of interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$ in brain tissue and serum of rats with focal brain ischemia

GUO Zong-ze<sup>1</sup>, LI Guang-yu<sup>1△</sup>, LENG Ru-pu<sup>2</sup>, LI Liang<sup>1</sup>, SHAN Wei<sup>1</sup>

(1. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. Emergency Department, The First Affiliated Hospital)

[Abstract] **Objective:** To study the expression of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) mRNA in ischemic brain tissues and the serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in rats with focal brain ischemia. **Methods:** The rat model of local brain ischemia was established by using intraluminal suture. The rats were killed 6, 12, 24, and 48 hours after brain ischemia, and the ischemic brain tissue and venous blood were sampled. The expressions of IL-6 and TNF- $\alpha$  mRNA and the serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  were determined by reverse transcriptional polymerase chain reaction and radioimmunoassay method, respectively. **Results:** The expressions of IL-6 and TNF- $\alpha$  mRNA in ischemic brain tissue increased, reached the peak after 6 hours, and returned to the baseline after 48 hours. The serum level of IL-6 increased after brain ischemia and reached the peak after 12 hours. The expression of TNF- $\alpha$  mRNA reached the peak after 12 hours. The serum level of TNF- $\alpha$  increased gradually within 48 hours. **Conclusion:** Focal brain ischemia can induce the high expressions of IL-6 and TNF- $\alpha$  mRNA in ischemic tissue and increase the serum levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ .

[Key words] brain ischemia; interleukin-6; reverse transcriptase chain reaction; tumor necrosis factor- $\alpha$

在脑缺血的损伤过程中白细胞介素6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 对神经系统调节起到重要的作用。本文探讨脑缺血后脑组织及血清IL-6和TNF- $\alpha$ 的表达。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物与分组

Wistar 雄性大鼠30只, 体质量270~300 g。(中国医科大学实验动物部提供)。水合氯醛35 mg/kg

腹腔注射麻醉, 参考longa的插线方法, 制备局灶性脑缺血大鼠模型。分为对照组, 缺血后6, 12, 24, 48 h组, 每组6只, 模型成功后分别在6, 12, 24, 48 h取静脉血于-20℃保存; 处死大鼠后取缺血侧顶叶的脑皮质, 液氮冷冻, -70℃保存。对照组大鼠不手术。

#### 1.2 放免法检测血清IL-6和TNF- $\alpha$ 的表达

IL-6和TNF- $\alpha$ 放免检测试剂盒(武汉博士德公司), 依据放免试剂盒的说明进行IL-6和TNF- $\alpha$ 的测量。

#### 1.3 半定量RT-PCR检测IL-6和TNF- $\alpha$ 的表达

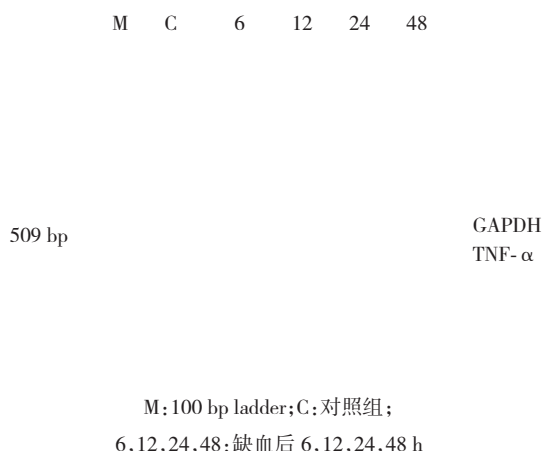
RNA提取采用TRIzol试剂盒, RNA逆转录采用Promega公司的逆转录试剂盒, 采用随机寡聚六磷酸核苷酸引物合成cDNA。以GAPDH为内对照。

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30400463)

[作者简介] 郭宗泽(1957-), 男, 副教授, 博士。

△Corresponding Author's E-mail: guangyuli@yahoo.com

IL-6 特异性引物序列如下：正义链 5'TACCC-CCAGGAGAAGATTCC 3'，反义链 5'TTTCAGC-CATCTTTGGAAGG 3'；TNF-α 正义链 5'TGCT-GCAGGACTTGAGAAGA3'，反义链 5'GGCTA-CATGGGAACAGCCTA3'，GAPDH 特异性引物如下：正义链 5'AATGCATCCTGCACCACCAA3'，反义链 5'GTAGCCATATTCATTGTCATA3'。反应条件为 95℃ 5 min 变性,95℃ 1 min,55℃ 1 min,72℃ 1 min,30 个循环,72℃ 延伸 10 min。PCR 产物 10 μl 在 1%琼脂糖凝胶进行电泳,成像,在凝胶分析成像系统进行半定量分析。



M: 100 bp ladder; C: 对照组;  
6, 12, 24, 48: 缺血后 6, 12, 24, 48 h

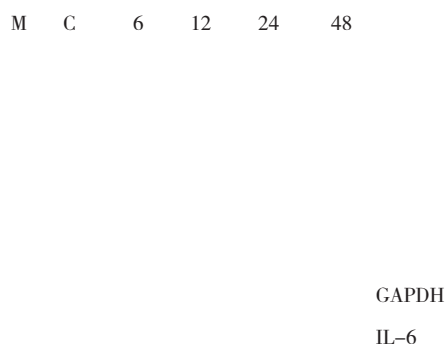
### 1.4 统计学处理

结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用方差分析,统计软件应用 SPSS 10.1。

## 2 结果

### 2.1 缺血脑组织中 IL-6 和 TNF-α mRNA 的表达

在缺血后脑组织中 IL-6 的表达明显升高,并在 6 h 时达到高峰,与对照组比较  $P < 0.01$ ,以后逐渐下降,在 48 h 恢复到正常水平;TNF-α 在损伤脑组织中 6 h 表达升高,12 h 达到高峰,与对照组比较  $P < 0.01$ ,之后逐渐下降,见图 1。



M: 100 bp ladder; C: 对照组;  
6, 12, 24, 48: 缺血后 6, 12, 24, 48 h

图 1 缺血后脑组织 IL-6 和 TNF-α 的表达

Fig.1 Expressions of IL-6 and TNF-α mRNA in ischemic brain tissues

### 2.2 脑缺血后大鼠血清中 IL-6 和 TNF-α 含量的变化

血清中 IL-6 的水平在缺血后也相应出现增

高,12 h 达到高峰,48 h 仍然处于较高水平,与对照组比较  $P < 0.05$ ;TNF-α 在缺血后血清含量即升高,在 48 h 仍继续升高,与对照组比较  $P < 0.05$ 。见表 1。

表 1 大鼠脑缺血后血清 IL-6 和 TNF-α 含量的变化( $\bar{x} \pm s$ ,ng/ml)

Tab.1 Levels of IL-6 and TNF-α in serum of rats with focal brain ischemia ( $\bar{x} \pm s$ ,ng/ml)

分组	对照	6 h	12 h	24 h	48 h
IL-6	114.1 ± 10.7	201.7 ± 31.0 <sup>1)</sup>	308.0 ± 39.7 <sup>1)</sup>	212.0 ± 18.0 <sup>1)</sup>	141.6 ± 20.3 <sup>1)</sup>
TNF-α	7.1 ± 1.7	32.7 ± 3.2 <sup>1)</sup>	45.5 ± 4.3 <sup>1)</sup>	68.9 ± 7.9 <sup>1)</sup>	74.6.6 ± 9.5 <sup>1)</sup>

注:1) 与对照组比较  $P < 0.05$

## 3 讨论

神经系统和免疫系统是维持机体内环境相对稳定的重要调节系统,当机体受到创伤后这两个系统相互作用。中枢神经系统存在很多的细胞因子和受体,在生理、病理过程中起到十分重要的调节作用,其中 TNF-α 和 IL-6 是十分重要的一种细胞因子。

我们在实验中建立了线栓法局灶性脑缺血的动物模型,该模型模拟了人类缺血性脑血管病的永久

性及暂时性局灶性脑缺血的各种状态,具有更强的说服力。本研究发现缺血早期血清中的 IL-6 水平即升高。而在缺血周围的脑组织中 IL-6 mRNA 的表达也明显升高。缺血脑组织中 IL-6 表达升高在时相上和血清的 IL-6 的水平略有不同。IL-6 作为神经保护和神经营养因子,对缺血后的脑损伤具有保护作用<sup>[1]</sup>。但是在临床的缺血性脑卒中病人的研究发现,血清中 IL-6 水平可以作为早期临床症状加重

(下转第 19 页)